サンプリーク QuEChERS 抽出キットと Agilent 5975T LTM GC/MSD を用いた野菜中農薬の盲検試験

アプリケーションノート

食品分析

著者

Suli Zhao、Andy Zhai
Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd.
12 Ying Lun Road
Shanghai 200131
China

概要

農薬の分析は、食品検出の分野において重要な項目です。この研究では、チェリートマトとキュウリに複数の農薬を盲検法により添加し、分析しました。アジレントの DRS ソフトウェア、RTL 農薬ライブラリ、高速 QuEChERS サンプル前処理と、可搬型の Agilent 5975T LTM GC/MSD を使えば、オンサイトでの迅速な農薬検出が可能です。このアプリケーションノートでは、可搬型 Agilent 5975T LTM GC/MSD を用いて、野菜に含まれるターゲット農薬をオンサイトで迅速に同定するメソッドを紹介します。

Agilent Technologies

はじめに

残留農薬は、食品安全性分野における大きな懸念事項です。現在では、食品サンプルに含まれる残留農薬を分析して、食品の流通を追跡し、食品供給の安全性を確保することが一般的になっています。野菜や果実に含まれる農薬については、製品を市場へ出すまえに、残留値が安全な範囲内であることを確認する必要があります。こうした分析を産地以外の場所で実施すると、大幅な遅れが生じたり、サンプル採取に費用がかかったりするほか、緊急の検出が妨げられます。多くの生鮮食品市場は、オンサイトの農薬検出装置を備えています。この装置の多くは、酵素反応や蛍光発光スクリーニング手法をベースにしたものです。こうした検出装置では、信頼性のある定性および定量結果を得ることはできません。信頼性の高い検出および農薬の分離をおこなうには、GC/MS が適しています。GC/MS では、正確な定性および定量結果を得られますが、多くの機器は、ラボに固定した形式でしか使用できません。GC/MS を移動式のオンサイトラボで使用できれば、サンプル採取と分析が同時に実施でき、農薬測定を迅速におこなうことが可能になります。この研究では、可搬型の Agilent 5975T LTM GC/MSD が、移動式ラボでの使用に適した、優れた性能を備えていることを証明しています。

アジレントは農薬分析用の優れたツールや、信頼性の高いソリューションを提供しています。GC/MS 用の Agilent DRS と、Agilent RTL 技術、ChemStation の定量機能、NIST の AMDIS 機能を組み合わせれば、農薬や外因性内分泌かく乱物質のスクリーニングや定量を実施できる、完璧な自動レポート作成パッケージが実現します。分析に必要な時間は、数時間単位ではなく、数分単位です。サンプル前処理には、Agilent QuEChERS EN 分散キットによる QuEChERS 抽出メソッドを使用しています。アジレントの従来の MS 製品は、比類のない性能と感度、正確性を備え、ラボでの分析において、継続的な生産性と、信頼性の高い結果を提供しています。このアプリケーションでは、2 種類の野菜に含まれる農薬を盲検法により同定し、Agilent 5975T LTM GC/MSD の性能と高速デコンボリューション機能を紹介しています。NY/T 761-2008 (中華人民共和国農務部) に従い、59 種類の農薬をチェリートマトとキュウリに添加しました。NY/T 761-2008 では、野菜や果実に含まれる約 106 種類の農薬が規制対象になっています。うち、95 種類の農薬については、GC を用いて検出する必要があります。このアプリケーションで用いた農薬は、すべてこの規則に従って選択したものです。このアプリケーションノートでは、マトリックスとしてチェリートマトとキュウリを使用し、Agilent 5975T LTM GC/MSD の機能を確認しました。

ポイント

このメソッドのポイントは、以下のとおりです。

- 簡単で迅速、かつ信頼性の高いサンプル前処理
- Agilent RTL 農薬ライブラリと DRS ソフトウェア
- サンプル分析後、2〜3 分で複数農薬の存在確認が可能
- 可搬型 Agilent 5975T LTM GC/MSD

実験手法

必要なソフトウェア

G1701EA GC/MS ChemStation (最新バージョン)

G1716 MSD デコンボリューションレポート作成ソフトウェア (バージョン A.04.00 以上)

G1033A NIST08 質量スペクトルライブラリ + AMDIS + NIST ライブラリ検索

G1672AA RTL 農薬ライブラリ

試薬と化学物質

すべての試薬は、分析グレードまたは HPLC グレードのものを使用しました。農薬は Sigma-Aldrich (米国ミズーリ州、セントルイス) から購入しました。水は MilliQ システム (米国マサチューセッツ州、ミルフォード) により入手しました。

装置と物質

分析には、Agilent 7693 オートサンプラを搭載した Agilent 5975T LTM GC/MSD システム (アジレント、中国、上海) を使用しました。RTL ソフトウェアは、Agilent MSD ChemStation の機能の一部です。DRS (A.04.00、p/n G1716AA) をインストールしました。化合物の分離には、Agilent J&W HP-5ms LTM (30 m × 0.25 mm、0.25 µm) を使用しました。抽出と精製には、Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出キット (p/n 5982-5650) とサンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE キット (p/n 5982-5156) を使用しました。

機器条件

表 1. 分析に用いた機器と条件

機器 :	
GCMS システム :	5975T LTM
注入口 :	スプリット/スプリットレス
オートサンプラ :	Agilent 7693
カラム :	Agilent J&W HP-5ms LTM 30 m x 0.25 mm、0.25 µm
ガードカラム :	分析カラムと同じ相の 1 m カラムを注入口に接続
実験条件 :	
注入口温度 :	280 °C
注入量 :	1 µL
注入モード :	スプリットレス
キャリアガス :	ヘリウム
ヘッド圧力 :	26.878 psi、コンスタントプレッシャーモード
メソッド RT	クロルピリホスメチルを 16.593 分にロック
LTM オーブン温度 :	70 °C (2 分)、25 °C/min、150 °C (0 分)、3 °C/min、200 °C (0 分)、8 °C/min、280 °C (10 分)
トランスファーライン温度 :	270 °C
MSD インターフェース :	270 °C
イオン源 :	230 °C
四重極温度 :	150 °C
イオン化モード :	EI
スキャンモード :	フルスキャン、50–550 u
EMV モード :	ゲインファクター
ゲインファクター :	5.00
EM 電圧 :	1129 V
溶媒ディレイ :	3 分

サンプル前処理

サンプル

サンプルとして、農薬の入っていない有機野菜を、中国の上海にあるスーパーマーケットで購入しました。このサンプルに、一定の数の農薬を異なる濃度で添加しました。

表 2. 盲検試験サンプルの詳細

サンプル マトリックス	農薬数	濃度範囲 (µg/g)	コメント
チェリートマト	40–59	0.05–1.0	添加
キュウリ	46	0.05–1.0	添加

抽出

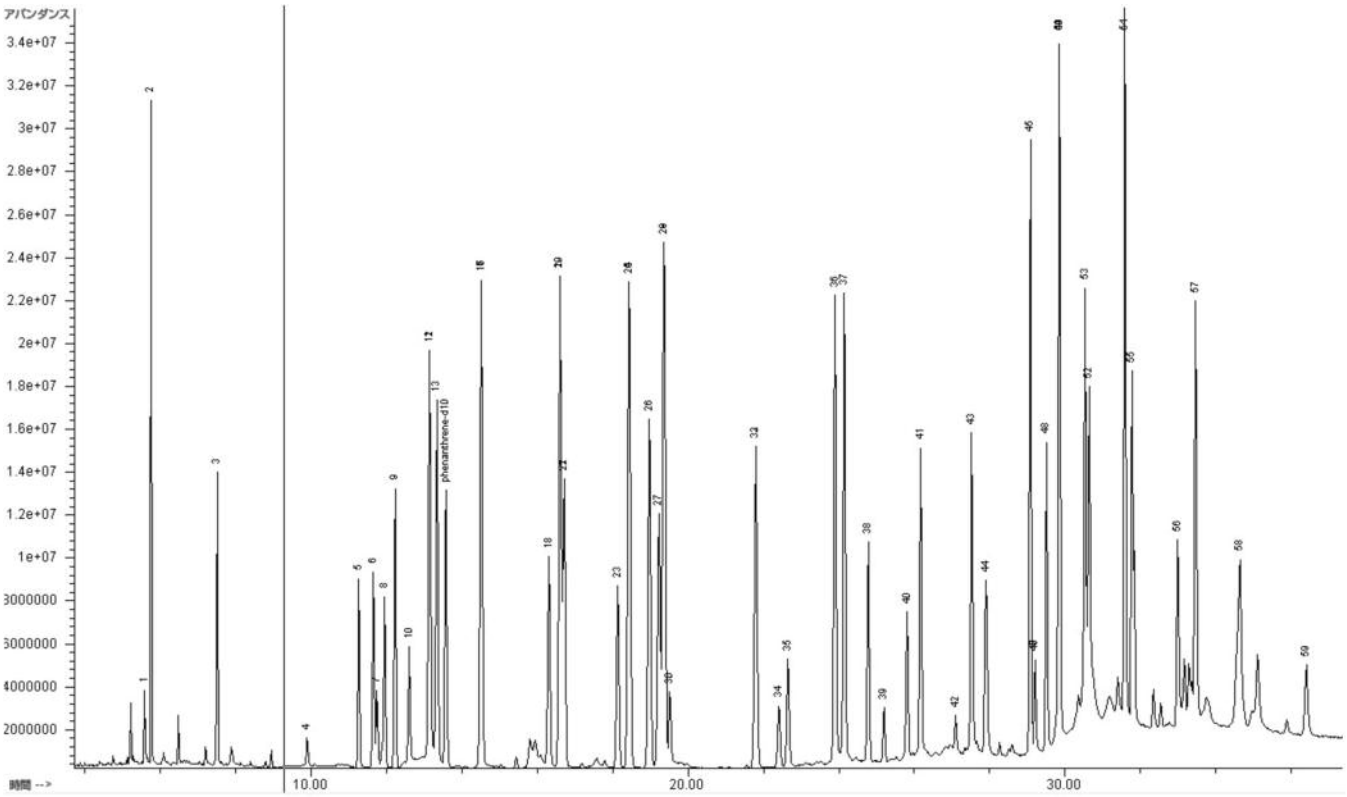
ホモジネートした野菜サンプル 5 g を 50 mL 遠心分離管に入れました。水 5 mL を遠心分離管に添加し、1 分間よく攪拌しました。その後、アセトニトリル 10 mL を添加し、30 秒間よく攪拌したのち、Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出パッケージを添加しました。パッケージには、無水 $MgSO_4$ 4 g、無水 NaCl 1 g、NaCitrate 1 g、クエン酸二ナトリウムセスキ水和物 0.5 g が含まれています。サンプルの入った管を 1 分間、手でよく攪拌したのち、4000 rpm で 5 分間、遠心分離しました。

精製

上澄みの ACN 層 6.0 mL をサンプリーク QuEChERs EN 分散 SPE 15-mL チューブに移しました。このチューブには、PSA 150 mg、C18 150 mg、無水 $MgSO_4$ 900 mg が含まれています。1 分間攪拌したのち、チューブを 4000 rpm で 5 分間、遠心分離しました。抽出液 4-mL を 0.22 µm フィルタ (p/n 5064-8222) でろ過したのち、分析をおこないました。

結果と考察

残留農薬分析用のサンプル抽出物は、一般にはきわめてダーティです。これは、徹底的な精製手順を用いると、サンプルマトリックスとともに農薬も除去してしまうおそれがあるためです。しかし、このサンプルの前処理では、「ダーティ」なマトリックスをある程度まで精製することが可能です。また、5975T LTM GC/MSD のガードカラムにより、一部の夾雑物も除去できます。このガードカラムは、必要に応じて簡単に交換できます。そのため、可搬型 5975T LTM GC/MSD は、屋外やオンサイトでの分析に適したツールといえます。DRS を使えば、干渉を「透視」し、ターゲット化合物 (このケースでは農薬) を検出することができます。この分析では、全部で 59 種類の農薬を、チェリートマトとキュウリに添加しました。図 1 に、農薬 59 種類のトータルイオンクロマトグラムを示しています。



1 メタミドホス
2 ジクロルボス
3 メビンホス
4 オメトエート
5 エタルフルラリン
6 トリフルラリン
7 モノクロトホス
8 BHC アルファ異性体
9 ヘキサクロロベンゼン
10 ジメトエート
11 アトラジン
12 BHC ベータ異性体
13 リンデン
14 ペンタクロロニトロベンゼン
15 ホスホラミドン I
16 BHC デルタ異性体
17 ダイアジノン
18 ホスホラミドン II
19 クロルピリホスメチル
20 メチルパラチオン
21 ビンクロゾリン
22 ヘプタクロル
23 フェニトロチオン
24 ピリミホスメチル
25 アルドリン
26 マラチオン
27 フェンチオン
28 クロルピリホス
29 パラチオン
30 トリアジメホン
31 イソドリン
32 キナルホス
33 イソフェンホス
34 メチダチオン
35 エンドスルファン (アルファ異性体)
36 ディルドリン
37 p,p'-DDE
38 エンドリン
39 エンドスルファン (ベータ異性体)
40 p,p'-DDD
41 エチオン
42 p,p'-DDT
43 ヘキサジノン
44 プロパルギット
45 イプロジオン
46 ビフェントリン
47 フェンプロパトリン
48 テトラジホン
49 ホサロン
50 マイレックス
51 レプトホス
52 ラムダシハロトリン
53 フェナリモル
54 ペルメトリン
55 クマホス
56 シペルメトリン
57 エトフェンプロックス
58 フェンバレレート
59 デルタメトリン

図 1. 農薬 59 種類のトータルイオンクロマトグラム (TIC)

チェリートマトとキュウリに含まれるターゲット農薬の直線性および回収率試験

3 種類の濃度の添加サンプルについて、回収率を評価しました。各濃度 2 回ずつ分析を繰り返し、サンプル前処理の再現性を調べました。濃度 0.05、0.1、0.5 µg/mL で、回収率は 79.0～118 % でした。ただし、検出下限を超える農薬は、この限りではありません。

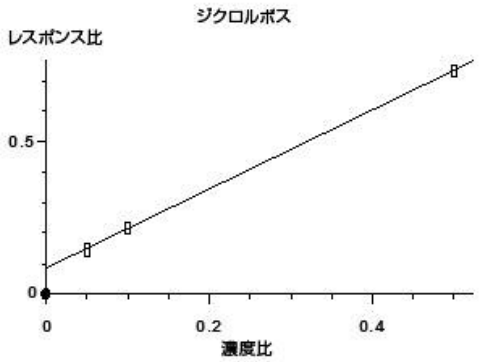


図 2. キュウリマトリックスに含まれるジクロルボス

各分析対象物のピーク面積を濃度に対してプロットし、検量線を作成しました。検量線の作成にあたっては、0.05～0.5 µg/mL の濃度でサンプルブランクに農薬を添加しました。分析した農薬の直線性係数は、0.995 以上でした。図 2 に検量線の例を示しています。

チェリートマトおよびキュウリに含まれる農薬の盲検試験

チェリートマトとキュウリに濃度の異なるターゲット農薬を添加し、サンプル前処理をおこなったのちに、検出される農薬の数を評価しました。RTL 農薬ライブラリと DRS ソフトウェアを用いて、928 種類の化合物を自動的にスクリーニングしました。所要時間は 2～3 分でした。

その後、0.5 µg/g～1.0 µg/g までのさまざまな濃度の農薬をチェリートマトとキュウリに添加しました。すべての濃度の農薬が DRS 農薬メソッドで検出されました。MSD ChemStation により、各化合物で 3～4 イオンほどのターゲットを同定し、定量結果を得ました。多くの低濃度農薬は、DRS では検出できますが、ChemStation では検出できませんでした。ターゲット農薬の定量データベースを手動で修正し、定量ベースをカスタマイズしたのちは、添加した農薬の 95 % を ChemStation により同定することができました。表 3 に、チェリートマトマトリックスの DRS 分析結果を示しています。

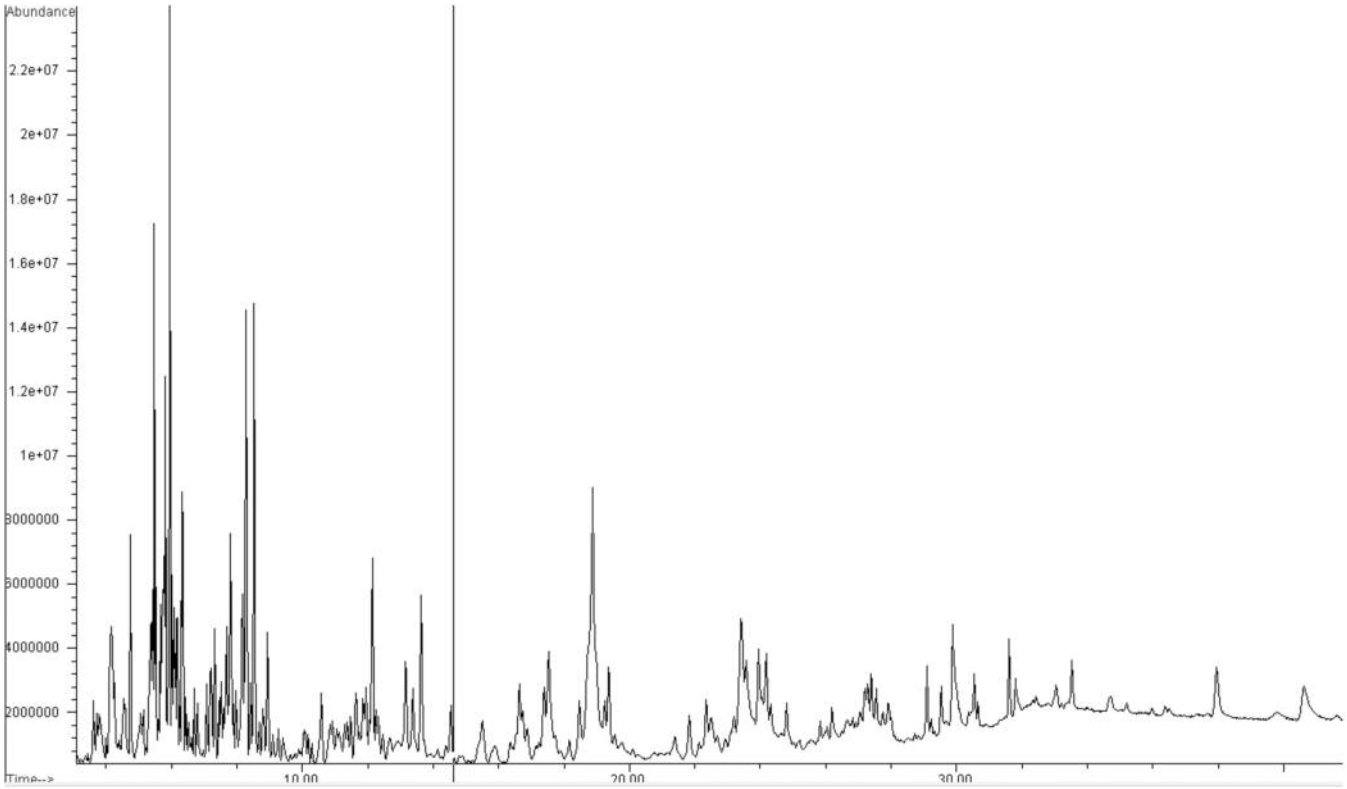


図 3. チェリートマトに添加した 0.2～1.0 µg/g の農薬。DRS ソフトウェアにより、すべてのターゲット農薬を 2 分以内で検出できました。

表 3. チェリートマトの DRS 分析結果の一部

			量 (ng)		AMDIS		NIST	
RT	CAS 番号	化合物名	ChemStation	AMDIS	マッチ	R.T. 差 (秒)	リバース マッチ	ヒット 順位
5.6755	10265926	メタミドホス	0.38		72	1.2	83	1
5.7722	62737	ジクロルボス	0.13		95	–3.5	90	1
7.5277	7786347	メビンホス	2.55		96	–4.0	80	1
11.2899	55283686	エタルフルラリン	0.77		94	0.4	87	1
11.6607	1582098	トリフルラリン	1.3		93	1.4	86	1
11.7711	6923224	モノクロトホス	0.1		83	2.0	80	1
13.1776	1912249	アトラジン	0.7		94	1.1	85	1
24.7983	72208	エンドリン	0.06		91	3.2	90	1
25.214	33213659	エンドスルファン (ベータ異性体)	0.1		87	4.0	81	2
25.8277	72548	p,p'-DDD	0.13		97	0.5	91	1
27.919	2312358	プロパルギット	1.65		86	2.3	89	1
29.5230	116290	テトラジホン	0.08		95	8.6	88	2
29.8285	2310170	ホサロン	0.32		85	9.1	80	1
29.8709	2385855	マイレックス	0.66		77	2.2	82	1
31.6063	52645531	ペルメトリン I	0.2		96	0.2	91	3
31.8530	56724	クマホス	1.03		89	0.2	80	1
33.5186	80844071	エトフェンプロックス	0.4		93	–0.1	92	1
35.9745	52918635	デルタメトリン			44	–1.6	64	1
36.506	52918635	デルタメトリン	0.05					
13.636		フェナントレン-d10						

結論

Agilent RTL および DRS ソフトウェアと簡単なサンプル前処理を組み合わせれば、可搬型 Agilent 5975T LTM GC/MSD を用いたオンサイト農薬分析が可能になります。このアプリケーションでは、マトリックス干渉の大半を除去するおもな手法として、最適化されたサンプル前処理メソッドも紹介しています。QuEChERS を用いて、サンプル前処理手順を単純化し、移動式ラボにおける分析性能を向上させました。交換の容易な Agilent 5975T LTM GC/MSD の LTM ガードカラムも、分析カラムをクリーンに保つための 1 つの方法となります。

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2010
Printed in Japan
October 4, 2010
5990-6323JAJP

Agilent Technologies